UNTERSUCHUNGEN

ÜBER DIE

SCHWARZEN FARBSTOFFE DER CHOROIDEA

UND VERWANDTE PIGMENTE.

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

KAISER-WILHELMS-UNIVERSITÄT STRASSBURG

ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

VORGELEGT VON

EUGEN HIRSCHFELD
PRACT. ARZT.

STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER
1889.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät der Universität Strassburg.

Referent: **Prof. Dr. HOPPE-SEYLER.**

Untersuchungen über die von den früheren Forschern gemeinhin als Melanine bezeichneten schwarzen Farbstoffe sind bisher nur in sehr spärlichem Maasse ausgeführt worden. Einer der Ersten, welcher sich mit diesem Gegenstande beschäftigt hat, ist Scherer[1]), welcher das Pigment der Choroidea von Ochsenaugen zu isoliren versuchte und auch die Zusammensetzung seines Präparates elementar-analytisch bestimmt hat. Weiterhin sind dann noch vereinzelte Analysen des in den Lungen, bei Sectionen sich so häufig vorfindenden schwarzen Farbstoffes von C. Schmidt[2]), und des in den melanotischen Sarcomen und Carcinomen enthaltenen Pigmentes von Dressler[3]) und von Pribram[4]) ausgeführt worden. Besonders dieser letztere Gegenstand ist noch relativ am häufigsten Ausgangspunkt von Untersuchungen gewesen, einerseits wegen der Wichtigkeit, welche die nähere Erforschung dieser malignen Geschwülste für die practische Medicin hat, andererseits wohl auch wegen des, verhältnissmässig grosse Mengen von Farbstoff liefernden, Rohmateriales.

Die theoretischen Anschauungen über die chemische Individualität und die Herkunft dieser schwarzen Pigmente gingen bei dem Mangel an thatsächlichen, positiven Befunden vollständig auseinander, indem die Einen dieselben als Abkömm-

---

[1]) Ann. d. Pharm., Bd. 40—63.
[2]) Gmelin, Handbuch der Organ. Chemie, Bd. VIII, 3, S. 2353.
[3]) Chem. Centr.-Blatt, 1866, S. 395.
[4]) Chem. Centr.-Blatt, 1866, S. 397.

linge des Blutfarbstoffes betrachtet wissen wollten, während die Anderen einen Zusammenhang dieser beiden hauptsächlichsten im thierischen Organismus auftretenden Pigmentarten entschieden in Abrede stellten. So sagt z. B. Lehmann[1]) in seinem Handbuch der physiologischen Chemie: «Dass das Melanin ein Umwandlungsproduct des Hämatins sei, dafür spricht ebensowohl sein Eisenreichthum, als die histiologisch (von Virchow und Kölliker) verfolgte Entwicklung jenes Stoffes in den Pigmentzellen.»

Dagegen wurde von der anderen Seite darauf hingewiesen, dass sich das Melanin auch da vorfände, wo überhaupt gar keine rothen Blutkörperchen vorhanden wären, oder die letzteren wenigstens sich noch nicht gebildet hätten. Demgemäss sagt Nencki[2]), gestützt auf seine Elementaranalysen: «Es besteht nicht die geringste chemische Beziehung zwischen dem Farbstoff der melanotischen Sarcome und dem Blutfarbstoff. Das Hämatin enthält Eisen, aber keinen Schwefel. Die Vorstellung, dass das melanotische Pigment durch Umbildung des Blutfarbstoffes entstehe, muss fallen gelassen werden.»

Auf diese vor einigen Jahren von Nencki[3]) und seinen Schülern J. Berdez[4]) und N. Sieber[5]) aufgenommenen und in mehreren Publicationen fortgesetzten Untersuchungen wollen wir noch späterhin, bei den Untersuchungen der einzelnen Farbstoffe, genauer zurückkommen. Ausser diesen Forschern haben noch K. A. H. Mörner[6]) und Miura[7]), der unter Salkowski arbeitete, ausschliesslich die Farbstoffe der melanotischen Tumoren studirt und eine Reihe von Körpern aus denselben dargestellt.

---

[1]) C. G. Lehmann, Handbuch der physiol. Chemie, S. 166.

[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 357.

[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 346—362, Bd. XXIV, S. 17—27.

[4]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 346—362.

[5]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm, Bd. XX, S. 362—364.

[6]) Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. XI, S. 66—142.

[7]) Virchow's Archiv, Bd. 107

Wir selbst haben folgende Pigmente bearbeitet: 1. das Pigment der Choroidea von Rinderaugen; 1. den schwarzen Farbstoff der Lungen und Bronchialdrüsen; 3. das Pigment der schwarzen Rosshaare; 4. das Pigment der Walfischhaut.

Leider war es uns bisher nicht möglich, einen melanotischen Tumor zu erhalten, dessen Farbstoff wir ebenfalls noch — vorkommenden Falles — zu untersuchen beabsichtigen.

Farbstoff der Choroidea von Rinderaugen.

Wie schon oben erwähnt, war Scherer[1]) der Erste, welcher den Choroidealfarbstoff näher untersucht hat. Seine Darstellungsweise war im Wesentlichen die, dass er die Choroidea von den benachbarten Häuten frei präparirte und dann das Blut durch Waschen mit Wasser, die Gewebstheile durch Auspinseln des Melanins zu entfernen suchte. Der mit Wasser verrührte Farbstoff wird absetzen gelassen, decantirt und filtrirt, das auf diese Weise zurückbleibende Pigment durch Behandlung mit Alkohol und Aether von weiteren Verunreinigungen, besonders Cholesterin und Fetten, befreit. Das so erhaltene, in Wasser untersinkende und leicht zerreibliche Präparat ist unschmelzbar und geruchlos, von braunschwarzer Farbe; es liefert bei der Elementaranalyse folgende mittlere Zusammensensetzung, bei welcher die Asche = 9,8 % nicht mit berechnet ist:

C = 56,88,
H = 5,95,
N = 13,76,
O = 23,41.

Es ist klar, dass diese Darstellungsweise, die uns keine vollständige Entfernung der beigemengten Eiweisskörper garantirt, keinen chemischen reinen Körper liefern konnte, wie auch schon aus dem hohen Aschengehalt hervorgeht. Im Uebrigen ist der Sauerstoffgehalt, wie N. Sieber mit Recht hervorhebt, ohne Rücksicht auf etwa vorhandenen Schwefel berechnet worden.

[1]) Gmelin, Handbuch der Organ. Chemie, Bd. VIII, 3, S. 2353.

Schwarzenbach[1]) fand in dem Augenschwarz von Ziegen neben 7,94% organischen Bestandtheilen 92,06% eisenhaltige Asche.

Etwas näher ist dann die Natur dieses Farbstoffes von L. Gmelin[2]) studirt worden, welcher eine Reihe von Reactionen desselben zusammenstellte: «Löst sich langsam und unvollständig unter Ammoniakentwicklung in heisser wässriger Kalilauge mit rothbrauner Farbe; aus der Lösung fällt Salzsäure braune, in kalter Kalilauge lösliche Flocken. Ammoniak wirkt schwächer als Kali. Er ist unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren, Alkohol, Aether, flüchtigen und fetten Oelen und Kalkwasser. Trocken destillirt liefert er ausser brenzlichen Nebenproducten kohlensaures Ammoniak, während in der Asche Kochsalz, Calciumphosphat und Eisenoxyd zurückbleiben.» Chlor soll ihn nur zum Theil entfärben; eine Angabe, welche sehr unwahrscheinlich klingt, da der oxydirenden Wirkung des Chlors ausser Kohle, welches, wenn in alkalischen Flüssigkeiten suspendirt, zur Verwechslung mit einer Farbstofflösung Veranlassung geben kann, keiner von allen bisher bekannten Farbstoffen Widerstand zu leisten im Stande ist. Concentrirte Salpetersäure und Schwefelsäure lösen den Farbstoff auf; aus beiden Lösungen kann er jedoch durch Verdünnen mit Wasser wieder ausgefällt werden.

Nur einen Theil der von Gmelin angegebenen Reactionen konnten wir bei unserem Pigmente bestätigt finden.

Neuerdings wurden diese Untersuchungen wiederum von N. Sieber[3]) aufgenommen, welche die Scherer'sche Darstellungsweise dahin modificirte, dass sie 2 Stunden lang mit 10procentiger Salzsäure kochte, durch welches Verfahren das in Lösung gegangene, peptonisirte Eiweiss durch Abfiltriren von dem ungelöst gebliebenen Farbstoffe getrennt werden konnte. Das so erhaltene Pigment ist unlöslich in den bekannten sonstigen Farbstofflösemitteln und löst sich nur wenig

[1]) Pharm. Viertelj., Bd. 11, S. 37.
[2]) Gmelin, Handbuch der Organ. Chemie, Bd. VIII, 3, S. 2353.
[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 362—364.

in Alkalien und concentrirten Mineralsäuren; im Spectrum zeigt es keinen Absorptionsstreifen. Die Elementaranalyse des Präparates ergiebt:

C = 59,9 — 60,34,
H = 4,61 — 5,02,
N = 10,81.

Beide Analysen sind aschefrei berechnet. Die Asche betrug im ersten Falle 0,0076 gr., im zweiten 0,0053, und bestand hauptsächlich aus Kieselsäure.

Diese Angaben differiren schon bedeutend, besonders, was den Aschegehalt angeht, mit den Zahlen der früheren Forscher darüber.

Die Analyse von Schweinsaugen, ebenfalls von N. Sieber ausgeführt, ergab nicht erheblich, von diesen an Rinderaugen erhaltenen Resultaten, abweichende Zahlen. In beiden Präparaten konnte übrigens Schwefel nicht nachgewiesen werden; auch zeigten sie sonst qualitativ keine wesentlichen Unterschiede.

Die Untersuchung des Augenfarbstoffes sowohl, als die der übrigen Pigmente wurde zuerst mit der Absicht unternommen, die Zugehörigkeit dieser sogenannten Melanine zu gewissen Körpern, mit denen sie nicht blos in ihrem Aussehen, sondern auch in vielen ihrer Reactionen Aehnlichkeiten, ja sogar Identität zeigen, Körper, die erst kürzlich durch Hoppe-Seyler's Untersuchungen in ihren Eigenschaften und Reactionen näher beschrieben wurden, und deren Bildung aus im menschlichen Harn vorkommenden Substanzen von Udránszky nachgewiesen hat, einem näheren Studium zu unterwerfen. Die Darstellungsmethode, deren Gang durch Voruntersuchung von zuerst 6, dann 14 Rinderaugen vorher festgestellt worden war, war im Wesentlichen folgende:

140 Rinderaugen, welche aus dem Schlachthaus bezogen worden waren, wurden in der Weise verarbeitet, dass zuerst die dem Bulbus anhaftenden Weichtheile mit Messer und Scheere wegpräparirt wurden, da durch diese bluthaltigen Gewebe, insbesondere durch die Muskeln, leicht eine Verunreinigung unseres Farbstoffes mit Blut stattfinden kann, was

bei dem hohen Eisengehalt in der Asche bei früher analysirten Präparaten der Fall gewesen zu sein scheint, indem dort wenig Rücksicht auf die Entfernung des Blutes genommen wurde. Der so frei präparirte und gereinigte Augapfel wird durch einen verticalen Schnitt, ungefähr in der Mitte zwischen dem vorderen und hinteren Augenpol, eröffnet und der flüssige Inhalt sammt corpus vitreum und Linse durch Zusammendrücken des Bulbus aus der durch den Schnitt gemachten Oeffnung herausgepresst. Auf diese Weise lässt es sich am leichtesten vermeiden, dass von der pigmenthaltigen Aderhaut und Iris grössere Stücke beim Entfernen des Inhaltes mit losgerissen werden. Darauf wird der Verticalschnitt vollendet, und nach vollständiger Eröffnung des Augapfels die Netzhaut, welche sich übrigens leicht abheben lässt, vom Centrum nach der Peripherie zu abgelöst, da man, wenn in umgekehrter Richtung präparirend, Choroidea mitfasst. Die Aderhaut lässt sich jetzt ohne Mühe von den Schnitträndern her nach ihrer Befestigung an der Eintrittsstelle des Sehnerven zu in toto von der Sclera abheben. In ähnlicher Weise verfährt man an der vorderen Halbkugel.

Bekanntlich findet sich das schwarze Pigment im Auge in drei histiologisch von einander getrennten Schichten. Die äussere Schicht der Choroidea, die Lamina fusca oder Suprachoroidea, welche der Sclera aufliegt, bedeutend schwächer als die nach innen folgende, die Choroidea propria, ist von dieser durch ein Endothelhäutchen abgegrenzt. Beide Schichten enthalten zahlreiche mit Pigmentkörnchen erfüllte Zellen. Ausserdem findet sich, als Grenze gegen die Retina hin, obgleich entwicklungsgeschichtlich zu dieser gehörend, die der Choriocapillaris unmittelbar angrenzende, aus den bekannten polyedrischen, meist sechsseitigen, lediglich Pigment führenden Zellen bestehende Epithelschicht. Eine Trennung dieser verschiedenen farbstoffhaltigen Gewebslagen wurde erst gar nicht versucht, sondern die Choroidea, wie schon oben erwähnt, in toto abpräparirt. Der der Sclera anhaftende Farbstoff wurde durch leichtes Schaben mit dem Scalpell und durch Abspülen mit der Spritzflasche gesammelt und bei der späteren Ver-

arbeitung mit den übrigen Farbstoffmengen vereinigt. Ein Auspinseln des Farbstoffes, wie es N. Sieber gethan hat, wurde nicht vorgenommen, um den damit verbundenen Verlust an Material zu vermeiden, und andererseits, weil unsere spätere Darstellungsmethode die Entfernung etwa beigemengter Eiweisskörper oder anderer Verunreinigungen garantirte. Sehr angenehm ist die geringe Anwesenheit von Blut, da die Thiere, von welchen die Augen stammen, ja durch Verbluten getödtet zu werden pflegen, während das Gegentheil, wie es bei der Verarbeitung von menschlichen Lungen beispielsweise der Fall ist, nicht bloss hindernd in den Weg tritt, sondern da auch einen Verlust an Material bedingt, der bei den relativ geringen Mengen des reinen Präparates und dem grossen Umfang des Rohmaterials, die vorliegen, keine untersuchbaren Farbstoffmengen mehr liefert. Nichtsdestoweniger muss man hier bei den Augen durch mehrfaches Auswaschen mit Wasser das noch vorhandene Blut sorgfältig zu entfernen suchen. Zu diesem Zwecke werden die gesammelten farbstoffhaltigen Materialien, nachdem sie mit der Scheere zerkleinert wurden sind, in einem Becherglase mit einer reichlichen Menge von Wasser verrührt und damit stehen gelassen. Nach dem Absetzen wurde die darüber stehende klare Flüssigkeit abgegossen, und, was von Farbstoffpartikelchen sich etwa nicht abgesetzt hatte, oder beim Decantiren aufgerührt worden war, mit sammt der Flüssigkeit in einem besonderen Gefässe gesammelt. Dieses Auswässern des Farbstoffes wurde sehr häufig wiederholt und dazu immer grössere Mengen — mehrere Liter — Wasser angewendet. Auf diese Weise ist man wenigstens sicher, ohne besonders grossen Materialverlust, das beigemengte Blut vollständig entfernt zu haben. Das, was sich aus den gesammelten Waschflüssigkeiten noch abgesetzt hatte, wird mit dem ursprünglichen Niederschlage vereinigt und zusammen mit diesem einer Behandlung mit 96procentigem Alkohol unterworfen. Auch hier wird in ähnlicher Weise verfahren, wie bei dem Waschen mit Wasser. Wenn es, wie es häufig vorkommt, die Flüssigkeit sich nicht leicht durch Decantiren von dem Niederschlage trennen lässt,

so thut man gut, durch einen Asbestpfropfen oder durch ein engmaschiges Drahtnetz hindurchzufiltriren. Ein Papierfilter anzuwenden, ist nicht empfehlenswerth, da der Farbstoff sich in den Poren des Filters festsetzt, und nicht blos dadurch ein Materialverlust entsteht, sondern auch leicht Papierfasern mit beigemengt werden, die sich dann ebenfalls beim Schmelzen mit Kali, wie der Farbstoff bei der späteren Verarbeitung, mit umsetzen. Die gesammelten, ganz schwach gelblich gefärbten Alkoholmengen werden filtrirt und abdestillirt, wobei nach dem Abdestilliren in dem Kolben eine trübe, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit zurückbleibt. Es ist also in dem Alkohol so gut wie nichts von dem Farbstoff in Lösung gegangen. Der Niederschlag wird jetzt einer mehrfachen Extraction mit Aether unterzogen, wobei sich in demselben ebenfalls kaum etwas löst.

Auf die Behandlung mit Aether folgt die mit kalter 5procentiger Salzsäure. N. Sieber hat den Farbstoffbodensatz mit 10procentiger Salzsäure etwa zwei Stunden lang im Rückflusskühler gekocht, ein Verfahren, auf dessen bedenkliche Seiten schon Mörner aufmerksam gemacht hat, indem er meint, dass der Farbstoff durch 2stündiges Kochen mit einer so concentrirten Mineralsäure möglicher Weise Veränderungen erlitten haben könnte. Ausserdem können durch ein derartiges Verfahren aus den beigemengten Körpern, speciell den Eiweisskörpern, neue Farbstoffe gebildet werden. Ich habe wenigstens, als ich einmal bei einem Controllversuche weisse Haare blos mit 5procentiger Salzsäure auf dem Wasserbade erhitzte, constatiren können, dass die bisher weissen Haare nach einiger Zeit sich pfirsichroth gefärbt hatten. In Folge dessen habe ich es stets vorgezogen, die Salzsäure nicht in dieser starken Concentration und kalt anzuwenden, zumal die Eiweisskörper, zu deren Entfernung durch Peptonisation N. Sieber so verfährt, auch durch das spätere Verfahren eliminirt werden. Der Farbstoff giebt übrigens bei seiner Behandlung mit Salzsäure nur Spuren an dieselbe ab. Denn, wenn man die filtrirten Waschflüssigkeiten sammelt und abdampft, so hinterlassen dieselben trotz

ihrer ursprünglichen Menge nur einen ganz unbedeutenden, zur Analyse nicht hinreichenden, Bodensatz. Zur Entfernung der Salzsäure wurde der Niederschlag wiederum einer mehrmaligen Behandlung mit Wasser unterworfen, bis schliesslich die decantirte Flüssigkeit blaues Lacmuspapier nicht mehr roth färbte.

Nachdem schon durch die Vorversuche festgestellt worden war, dass der Farbstoff sich in Alkalien beim Erhitzen löste, wurden die gesammelten Farbstoffmengen in einen Kolben gebracht und mit einer genügenden Menge 2procentiger Kalilauge übergossen. Hierbei möchte ich nur kurz erwähnen, dass auch bei der weiteren Behandlung der Farbstoffe Kalium- und Natriumhydrat stets ohne Unterschied zur Anwendung gelangten. Schon in der Kälte löste sich ein ziemlich beträchtlicher Theil des schwarzen Farbstoffes, besonders, wenn man den Kolben mehrfach umschüttelte, indem sich die Flüssigkeit dunkelbraun färbte, während bei dem Erhitzen auf dem Wasserbade die Färbung alsbald eine viel intensivere wurde. Bei diesem Erhitzen auf dem Wasserbade lässt sich gleich am Anfange eine ziemlich beträchtliche Gasentwicklung constatiren. Wenn man die entweichenden Dämpfe durch ein darüber gehaltenes angefeuchtetes Curcumapapier prüft, so kann man beobachten, dass dasselbe sich binnen Kurzem intensiv braun färbt. Es handelt sich hier also um eine Entwicklung von Ammoniak, wie übrigens schon durch den Geruch zu erkennen war. Ob zugleich eine Bildung von organischen Basen — Methylamin, Trimethylamin etc. — beziehungsweise Austreibung derselben durch die Kalilauge vorgelegen hat, ist möglich, aber nicht festgestellt worden. Der Entscheid darüber wäre durch eine Platinanalyse der durch Destillation aufgefangenen Gase, die aber aus anderen Gründen unterblieben war, zu treffen gewesen. Schon nach zweistündigem Erhitzen auf dem Wasserbade ist der bei Weitem grösste Theil des Farbstoffes in die Kalilauge übergegangen. Der beim Filtriren der braunschwarzen Lösung auf dem Filter bleibende Rückstand löst sich ziemlich vollständig, bis auf einen geringen Bruchtheil, beim weiteren

Erhitzen mit Kalilauge von der oben angegebenen Concentration. Es differirt dieser Befund mit der Angabe von N. Sieber, welche den nach ihrer Methode ebenfalls aus Rinderaugen dargestellten und gereinigten Farbstoff sehr wenig löslich in Alkalien nennt. Denn, wenn selbst Spuren nach mehrstündigem Erhitzen mit 2procentiger Kalilauge ungelöst auf dem Filter zurückblieben, so lag das, meiner Meinung nach, weniger daran, dass der Farbstoff in der Alkalilauge unlöslich war, als vielmehr, dass hier, wo man es doch eigentlich noch mit dem Rohmateriale zu thun hatte, Verunreinigungen, welcher Natur dieselben gewesen sind, will ich dahingestellt sein lassen, noch vorgelegen haben, welche das in Lösung gehen des Pigmentes verhinderten, beziehungsweise erschwerten. Dafür spricht auch, dass der einmal in Kali gelöste Farbstoff und durch Salzsäure gefällt, sich nunmehr leichter in Kali löst als vorher. Im Uebrigen stimme ich darin mit N. Sieber überein, dass das bei 100° getrocknete Präparat bedeutend langsamer in Lösung geht, als die noch wasserhaltigen frisch gefällten Flocken.

Nachdem also der Farbstoff genügend lange mit Kalilauge auf dem Wasserbade erhitzt worden war, wurde erkalten gelassen, und dann durch ein Faltenfilter filtrirt. Die Filtration geht ziemlich leicht von statten. Das klare, in dünnen Schichten durchsichtige Filtrat wird jetzt mit Salzsäure bis zur deutlich sauren Reaction versetzt. Ein grosser Ueberschuss von Säure ist schon deshalb zu vermeiden, weil man ihn später zu lange auswaschen müsste. Sobald die Reaction der Flüssigkeit eine saure geworden ist, kann man beim Neigen des Becherglases erkennen, wie in der Flüssigkeit eine dichte Menge von braunschwarzen kleinen Flocken herumschwimmen. Sehr bald beginnt sie sich jedoch zu klären und die Flocken setzen sich in der Form eines sehr voluminösen Niederschlages auf dem Boden des Gefässes ab, während die darüber stehende Flüssigkeit mehr oder weniger gelb gefärbt ist. Je länger man den Niederschlag stehen lässt, um so mehr verdichtet er sich, so dass man nach einigen Tagen die ursprünglich scheinbar sehr grosse Menge des Farb-

stoffes, zu seiner Enttäuschung, auf einen ganz geringen Bruchtheil des ursprünglichen Volumens reducirt sieht. Die Flüssigkeit lässt sich leicht von dem Niederschlage durch Decantiren trennen. Sobald durch Abgiessen nichts mehr entfernt werden konnte, wurde filtrirt, wozu ein möglichst kleines anliegendes Filter verwendet werden muss. Man hat es sorgfältig zu vermeiden, dass der Niederschlag auf dem Filter antrocknet, weshalb man ihn am besten stets bedeckt hält. Sobald die Flüssigkeit durchgelaufen ist, wird der Niederschlag mit der Spritzflasche von oben herunter auf einen möglichst kleinen Raum zusammengespült und so lange mit destillirtem Wasser nachgewaschen, bis die abfliessende Flüssigkeit nicht blos nicht mehr sauer reagirte, sondern auch mit Silbernitrat keine erkennbare Trübung ergab. Für die spätere Verarbeitung durch das Zusammenschmelzen mit Kali ist es zwar gleichgültig, ob das Präparat noch Spuren von Chlorkalium oder Salzsäure enthält, indessen ist es, wenn man das Präparat vorher noch in anderen Richtungen untersuchen will, wichtig, das Pigment chlorfrei zu haben.

Das Filter wird dann herausgenommen, auf Fliesspapier getrocknet, und der Farbstoff mit einem Spatel in eine kleine Schale gebracht, indem man dabei sorgfältig vermeidet, Papierfasern mitzunehmen. Die Substanz wird nunmehr auf dem Wasserbade mehrere Stunden lang getrocknet, bis aus der zerfliesslichen schwarzen Masse ein zerreibliches dunkles Pulver geworden ist, das dann ein sehr kleines Volumen der ursprünglich feuchten Substanz darstellt. Der getrocknete Farbstoff wird in einem kleinen Becherglase oder einem Erlenmeyerschen Kölbchen mit Alcohol übergossen und erwärmt, und die Extraction mit Alcohol mehrfach wiederholt. Derselbe lässt sich leicht von dem Pigmentniederschlage abgiessen. Nach der Alcoholbehandlung wurde der Farbstoff mehrere Male mit Aether ausgeschüttelt, und dies so lange fortgesetzt, bis der Aether sich nicht mehr färbte und beim Abdestilliren keinen Rückstand mehr hinterliess. Bei den übrigen schwarzen Farbstoffen, besonders bei den Harnen, ist jetzt noch eine ausgiebige Chloroformbehandlung nothwendig, um

den beigemengten Schwefel zu entfernen, was aber bei dem Augenfarbstoff nicht der Fall ist.

Nachdem die letzten Spuren Aether durch Verdunsten entfernt worden waren, zeigt unser Farbstoff folgende Eigenschaften und Reactionen:

Chemische Zusammensetzung. Schwarzes, wie Kohle glänzendes Pulver. Auf dem Platinblech erhitzt, entwickelt es Horngeruch, ist also stickstoffhaltig; es schmilzt nicht, und ändert sein Aussehen erst nach relativ sehr langer Einwirkung der Hitze, worauf es eine sehr geringfügige, gelblichweisse Asche — Kieselsäure — hinterlässt. Der Stickstoff wurde auch noch dadurch nachgewiesen, dass die Substanz mit Natrium zusammen im Reagensrohr geschmolzen, beim Auflösen im Wasser mit Ferri-Ferrochlorid und Salzsäure die Berlinerblau-Reaction gab. Dagegen konnte mit Soda und Salpeter geschmolzen, beim Auflösen der Schmelze in Chlorwasserstoffsäure, durch Baryumchlorid keine Trübung oder gar Niederschlag von Baryumsulfat hervorgebracht werden. Das Pigment enthält somit keinen Schwefel. Auch Eisen ist in demselben nicht vorhanden.

Verhalten gegen Lösungsmittel. In Wasser ist der Farbstoff unlöslich oder jedenfalls nur sehr schwer löslich; dagegen löslich in Kalilauge und Natronlauge sowohl, als auch in Aetzammoniak mit rothbrauner Farbe. Auch Wasser, das durch die eben genannten Agentien alkalisch gemacht worden ist, ist im Stande, das Pigment aufzulösen. Die alkalische Lösung des Farbstoffes zeigt bei der spectroscopischen Untersuchung keinen Absorptionsstreifen.

Was das Verhalten gegen Mineralsäuren anbetrifft, so löst er sich in concentrirter Schwefelsäure und ebenso in concentrirter Salpetersäure mit dunkelrother Farbe.

Beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure wird die Substanz verkohlt. Wenn man die filtrirte Lösung des Farbstoffes in concentrirter Salpetersäure in ein mehrfaches Volumen Wasser einträgt, so entsteht alsbald eine Trübung der röthlichgelb gefärbten Flüssigkeit und nach einigem Stehen

setzen sich auf dem Boden des Gefässes braunrothe Flocken ab. Es wird decantirt, dann filtrirt und der auf dem Filter gesammelte Niederschlag mit Wasser nachgewaschen. Der Niederschlag wird mit sammt dem Filter — bei der geringen Menge des erhaltenen reinen Präparates und bei der Umständlichkeit und Schwierigkeit der Darstellung konnten natürlich nur ganz geringe Proben unseres gereinigten Pigmentes zu diesen Reactionen verwendet werden — in einer Schale auf dem Wasserbade erst mit 96procentigem Alcohol, der sich aber nicht merklich färbte, übergossen. Nach dem Verdunsten des Alcohols wurde mit Aether extrahirt; auch hierin löste sich nichts, ebenso wenig wie bei dem nun folgenden Erwärmen mit Eisessig. Dagegen färbte sich, nachdem die Essigsäure durch Verdampfen verjagt worden war, bei Behandlung mit Kalilauge dieselbe sofort braunroth. Es verhält sich demnach der aus der Salpetersäurelösung durch Verdünnen mit Wasser erhaltene Niederschlag in diesen Reactionen gleich dem ursprünglichen Farbstoff, dem er übrigens in seinem macroscopischen Aussehen nicht so ganz gleicht. Ob eine Veränderung stattgefunden hat oder nicht, müssen weitere Untersuchungen, die mit grössen Materialmengen arbeiten, entscheiden. Verdünnte Säuren sind nicht im Stande, den Farbstoff aufzunehmen, auch nicht beim Erhitzen. Ich will hier nur kurz hervorheben, dass bei dieser Schilderung der Eigenschaften des Pigmentes immer von dem nach obiger Methode gereinigten und getrockneten Präparat die Rede ist, dessen Feuchtigkeitsgehalt durch mehrstündiges Erhitzen auf dem Wasserbade vertrieben worden ist. Wenn man die alkalische Lösung des Farbstoffes mit Salzsäure fällt, so ist das Filtrat immer mehr oder weniger gelb gefärbt; und die Färbung wird um so intensiver, je mehr sich nach dem Auswaschen der Säure die Reaction der neutralen nähert. Hieraus geht hervor, dass das frischgefällte Pigment sowohl in Wasser als auch in verdünnten Säuren in geringem Grade löslich ist. Ebenso nehmen auch andererseits Alkalien, wie auch schon oben erwähnt worden ist, das Pigment viel leichter auf, wenn es aus der alkalischen

Lösung durch Salzsäure niedergeschlagen worden ist, als den getrockneten pulverisirten Farbstoff.

Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure wird aus unserem Pigmente kein, Kupferoxyd reducirender, Körper abgespalten.

Von den organischen Lösungsmitteln, mit denen wir das Präparat zusammenbrachten, ist keines im Stande gewesen, dasselbe aufzunehmen. Es ist unlöslich, sowohl in der Wärme als in der Kälte, in Eisessig, Alcohol (in verschiedenen Concentrationen angewendet), Aethyläther, Petroleumäther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol.

Sehr interessant ist das Verhalten gegen Alcohol in wässriger alkalischer Lösung, das erst kurz vor der Veröffentlichung dieser Arbeit beobachtet worden ist, da es sonst möglicher Weise bei der Darstellung Verwendung gefunden hätte. Versetzt man nämlich eine filtrirte wässrige alkalische Lösung des Farbstoffes mit einem mehrfachen Volumen Alcohol, so trübt sie sich alsbald und setzt den Farbstoff in zähen braunrothen Flocken ab. War die ursprüngliche Lösung zu sehr verdünnt, so findet anfangs nur eine Trübung statt; erst nach längerem Stehen, noch besser beim Erhitzen, scheiden sich die Flocken deutlich aus und setzen sich ab, während die Flüssigkeit klar wird.

Verhalten gegen Oxydations- und Reductionsmittel. Das Verhalten gegen Salpetersäure ist schon vorhin geschildert worden.

a) Chlor. Wenn man Chlor in die wässrige alkalische Lösung einleitet, so findet binnen Kurzem eine Entfärbung der anfangs undurchsichtigen tintenähnlichen Flüssigkeit statt, ein Process, der bedeutend[1]) schneller vor sich geht, wenn man bei Tage operirt, als bei künstlicher Beleuchtung. Wenn so viel Chlor in die leicht gelbliche Flüssigkeit eingeleitet worden ist, dass dieselbe sauer reagirt, und getrübt ist, versetzt man sie mit Natronlauge im Ueberschuss, worauf eine Aufhellung

[1]) In einem Falle beobachtet.

stattfindet. Es wird filtrirt, und das alkalische Filtrat mit Salzsäure übersättigt. Es fallen weisse Flocken aus, welche sich bald niederschlagen. Es ist also der Farbstoff in der Weise vom Chlor angegriffen worden, dass das Product zwar wie früher in Alkalien löslich ist und durch Salzsäure in den charakteristischen Flocken wieder ausfällt, aber während die Flocken früher rothbraun gefärbt waren, sind sie jetzt weiss. Bringt man nun die saure Flüssigkeit mit sammt den Flocken in eine kleine Schale, und erhitzt auf dem Wasserbade, so färben sich die letzteren wieder dunkler und nehmen ihre ursprüngliche rothbraune Farbe wieder an, indessen hat ihre Menge gegen früher bedeutend abgenommen. Demgemäss ist auch die Lösung, wenn man mit Natronlauge übersättigt, nicht so intensiv gefärbt, wie die Versuchslösung, von der wir ausgegangen sind. Es ist dies letztere eine Eigenschaft, die unser Farbstoff auch mit anderen Farbstoffen theilt. Wenn man in Blut oder Harn Chlor einleitet, und die entfärbte Flüssigkeit hernach erwärmt, so färbt sie sich wiederum.

b) Wasserstoffsuperoxyd. Fügt man zu der alkalischen Lösung Wasserstoffsuperoxyd hinzu, so findet eine Ausfällung in den bekannten rothbraunen Flocken statt. Dieselbe rührt nicht etwa davon her, dass das Wasserstoffsuperoxyd überschüssige Säure enthält, denn die Reaction ist trotz des Niederschlages alkalisch geblieben. Auch kommt die Ausfällung nicht dadurch zu Stande, dass im Wasserstoffhyperoxyd enthaltene Partikelchen den Farbstoff mechanisch mit niederreissen. Denn filtrirt man auch die erstere vor dem Versuche, so kommt nichtsdestoweniger die Reaction in derselben Weise zu Stande wie vorher.

Das Merkwürdige hierbei ist, dass hier anscheinend keine Oxydation stattgefunden hat, die doch besonders gern in alkalischer Lösung durch jenes Agens bewirkt zu werden pflegt. Wenigstens war eine Entfärbung der Flocken trotz Erhitzen und längerem Stehenlassen — mehrere Tage — nicht zu beobachten.

c) Reduction mit Natriumamalgam. Man bringt den Farbstoff mit Natriumamalgam zusammen, und erhitzt

längere Zeit auf dem Wasserbade in einem Kolben in der Weise, dass die sich leicht bildende alkalische Farbstofflösung stets von einer Wasserstoffatmosphäre umgeben ist — der Kolben ist mit einem durchbohrten Kautschuckstopfen versehen, in welchem eine Glasröhre steckt, die nach aussen zu in eine lang ausgezogene feine Spitze ausläuft, durch welche der nascirende Wasserstoff zuerst die Luft aus dem Kolben treibt, und dann selbst entweicht —, so kann man nach einiger Zeit eine Entfärbung der Lösung constatiren, die um so deutlicher sich ausspricht, je länger man mit der Erhitzung fortfährt. Es wird die nahezu ganz farblos gewordene Lösung filtrirt. Die Filtration geht sehr langsam von statten. In dem Filtrate fallen bei Uebersättigen mit Salzsäure leicht gefärbte Flocken aus. Sowohl diese Flocken als die klare darüber stehende Flüssigkeit färben sich bei längerem Stehen an der Luft wieder dunkler, scheinen sich also lediglich durch den Sauerstoff der Luft wieder zu oxydiren.

Die Menge des aus 140 Rinderaugen gewonnenen, gereinigten und getrockneten Farbstoffes betrug, nach Abrechnung aller Materialverluste, noch 3,9 gr. Diese Substanz wurde behufs Studium ihrer weiteren Zersetzungsproducte mit Aetzkali geschmolzen. Zu diesem Zwecke wurde der pulverisirte Farbstoff in eine Retorte gebracht, und dann die 5—6fache Menge Aetzkali — circa 20 gr. — hinzugefügt. Bei der vorgängigen Untersuchung erwies sich das durch Alcohol gereinigte Kali causticum als frei von Salpetersäure und salpetriger Säure. Die Mischung wurde mit etwa 30 cbcm. Wasser angefeuchtet, indem zugleich mit der Spritzflasche an der Wand der Retorte hängen gebliebene Farbstoffpartikelchen heruntergespült wurden, damit sie der Schmelze nicht entgingen. Die Retorte ist mit einem gut eingeschliffenen Glasstöpsel versehen und befindet sich zusammen mit einem Thermometer in einem Oelbade, in das sie mindestens so tief eintaucht, als die zu schmelzende Masse in ihrem Inneren hoch steht, jedoch ohne dabei den Boden des Oelbades zu berühren. Auf diese Weise kann eine genaue Regulirung der Temperatur stattfinden. Der

ausgezogene Hals der Retorte mündet nach vorne in einen Kühler, in dessen Abflussrohr er hineingesteckt wird. Durch einen über beide gezogenen Kautschuckschlauch, der also nicht direct mit den abdestillirenden Gasen in Berührung tritt, wird die Verbindung vollends dicht gemacht.

Nun wird das Oelbad langsam erwärmt. Bis die Temperatur auf gegen 150° gestiegen ist, lässt sich keine merkbare Einwirkung der Erhitzung auf die in der Retorte befindliche Masse beobachten. Erst bei 155—160° beginnt dieselbe unter starkem Aufschäumen in Fluss zu gerathen. Jetzt muss man mit der weiteren Erwärmung sehr vorsichtig vorgehen, zumal, wenn sich etwas zu viel Wasser in der Retorte befindet, da die überschäumende Masse leicht durch den Kühler in die Vorlage getrieben wird, und eine Herausnahme der Retorte aus dem erhitzten Oelbade, um jenes zu verhindern, in Folge ihrer Verbindung mit dem Kühler nur schwer sich bewerkstelligen lässt. Nachdem man also eine Zeit lang die Temperatur auf 160° gehalten hat, bis der grösste Theil des Wassers überdestillirt ist, kann man allmälig höher gehen. Die Grenze, bis zu welcher die Erwärmung der Schmelze fortgesetzt wurde, war 250°, über welche niemals hinausgegangen wurde. Sobald die schwarze Masse im Inneren der Retorte nicht mehr aufschäumte, und keine Blasen mehr trieb, sondern sich klärte, wurde die Schmelze als beendigt angesehen, die Verbindung mit dem Kühler gelöst, und die Retorte, zur Abkühlung des Schmelzrückstandes, aus dem Oelbade in die Höhe geschraubt. Die ganze Reaction pflegt in der Regel $2^1/_2$—3 Stunden in Anspruch zu nehmen, je nach der Menge Wasser, welche am Anfange hinzugesetzt worden war.

A. Untersuchung des Destillates.

Die in der Vorlage aufgefangene alkalisch reagirende Flüssigkeit wurde, auch wenn aus der Retorte keine Substanz durch Ueberschäumen hinübergerissen worden war, nochmals auf freiem Feuer abdestillirt, nachdem vorher das Rohr des Kühlers sorgfältig gereinigt und mit destillirtem Wasser durchgespült worden war. Das Destillat gab mit

Salpetersäure, welche salpetrige Säure enthielt, die von der Bildung von Nitrosoindolnitrat herrührende Rothfärbung. Bei der zweiten Destillation wurden die übergehenden Gas- und Flüssigkeitsmengen in einer mit verdünnter Salzsäure gefüllten Vorlage aufgefangen. Die salzsaure farblose Lösung wird in einer Schale auf dem Wasserbade eingedampft. Alsbald nach dem Erwärmen färbt sich die Flüssigkeit roth. Nachdem bis zur Trockene eingedampft und die Salzsäure vertrieben worden war, liess sich deutlich ein ganz charakteristisch jasminartiger Geruch wahrnehmen. Die trockene Masse wurde mit wenig Wasser in der Schale übergossen, wobei sie sich leicht löste. Die Lösung wurde filtrirt und das klare Filtrat mit Platinchlorid versetzt. Ein relativ reichlicher, gelb gefärbter Niederschlag entstand, welcher sich nach 24stündigem Stehen auf dem Boden des Becherglases gut absetzte. Hierauf wurde filtrirt und der Filterrückstand sorgfältig mit Wasser nachgewaschen, und dann — er liess sich leicht vom Filter herunternehmen — bei 100—105° so lange getrocknet, bis er ein constantes Gewicht angenommen hatte:

0,3594 gr. des getrockneten Platindoppelsalzes ergeben 0,1579 gr. des 0,1579 gr. Platin. Dies entspricht:

43,93 % Platin.

Ammoniak verlangt für seine Platindoppelverbindung $(NH_4)_2Cl_2PtCl_4$ einen Procentgehalt von 44,13 Platin. Es handelt sich hier also ausschliesslich um Ammoniak.

Die von dem Platinammoniumniederschlage abfiltrirte Lösung wurde mit sammt den gesammelten Waschwässern wiederum in der Schale zur Trockene eingedampft, und die zurückbleibende Substanz in Alcohol gelöst, die alcoholische Lösung abfiltrirt, und das Filtrat mit alcoholischer Platinchloridlösung gefällt. Es entsteht ein nicht ganz so starker Niederschlag, wie bei der vorhergehenden Fällung. Der auf dem Filter gesammelte und mit Alcohol nachgewaschene Niederschlag wird getrocknet und analysirt:

0,1983 gr. des getrockneten Platindoppelsalzes geben geglüht 0,08345 gr. Platin. Dies entspricht:

42,18 % Platin.

Es ist aus dieser Zusammensetzung des Doppelsalzes ersichtlich, dass in dem Destillate neben sehr viel Ammoniak nur ein kleiner Theil von Aminbasen enthalten sind. Denn die dem Ammoniak, in Bezug auf den Platingehalt, am nächsten stehende Base ist Methylamin. Dieses verlangt aber bereits einen Procentgehalt von 41,52 Pt, entsprechend der Formel $(NCH_3)_3Cl_2PtCl_4$.

Worauf die Rothfärbung übrigens beim Eindampfen der salzsauren Lösung zurückzuführen ist, und jener, oben erwähnte, jasminartige Geruch, habe ich nicht ermitteln können.

B. Schmelzrückstand.

Nachdem der Schmelzrückstand erkaltet war, wurde derselbe, ohne lange der Luft ausgesetzt zu sein, mit einer vorher abgemessenen Menge verdünnter Schwefelsäure übersättigt. Sofort entwickelten sich dichte Dämpfe und zugleich ein ganz widerlicher penetranter Geruch, wie ihn die höheren Fettsäuren verbreiten. Nach dem Erkalten der Mischung wurde dieselbe in eine Schale ausgegossen, und durch Nachspülen und Umschütteln mit destillirtem Wasser die noch an der Retortenwandung festhaftenden Massen vollends entfernt. Die gehörig mit einander verrührte Mischung wurde filtrirt. Das klare Filtrat war ziemlich dunkel gefärbt; es war also in die verdünnte Schwefelsäure etwas Farbstoff in Lösung gegangen. Welcher Natur derselbe war, konnte wegen seiner geringen Menge nicht weiter untersucht werden, sondern es wurde vielmehr die Flüssigkeit bis auf etwa den dritten Theil ihres ursprünglichen Volumens abdestillirt. Das sauer reagirende Destillat sollte weiter mit Baryumhydrat auf Fettsäuren verarbeitet werden; es ist diese Untersuchung aber durch Platzen des Kolbens verunglückt. Indessen lässt schon die gefundene Oxalsäure schliessen, dass flüchtige Säuren übergegangen waren.

Die im Destillationskolben zurückgebliebene Flüssigkeit wird, nach dem Erkalten, im Scheidetrichter mit grossen Mengen Aether wiederholt ausgeschüttelt, die gesammelten Aethermengen filtrirt und bis auf einige Tropfen abdestillirt.

Der Kolben wird dann mit einer geringen Menge Wasser ausgespült, das Spülwasser filtrirt, das Filtrat mit Natriumcarbonat alkalisch gemacht, und von Neuem mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Abdestilliren des Aethers wird der Rückstand in Wasser aufgenommen, und eine Probe davon im Reagensrohr mit wenig Eisenchlorid versetzt. Es entsteht eine, ganz schwach ausgeprägte, schmutzige Grünfärbung, welche aber sofort verschwindet. Es ist also so gut wie kein Brenzcatechin vorhanden. Nun wurde weiter auf Protocatechusäure untersucht, welche, wenn vorhanden, in der durch Soda alkalisch gemachten wässrigen Lösung zurückgeblieben sein musste. Zu diesem Zwecke wurde dieselbe mit Essigsäure übersättigt, und rasch mit Aether ausgeschüttelt, in welchen die, durch die Essigsäure freigemachte, Protocatechusäure nunmehr übergehen muss. Nach dem Abdestilliren des Aethers wird der Rückstand ebenfalls mit Wasser aufgenommen, das Wasser, zur Verjagung der noch restirenden Essigsäure auf dem Wasserbade in einer kleinen Schale abgedampft, nochmals mit Wasser erschöpft, und ein Theil der filtrirten, wässrigen Lösung mit einem Tropfen Eisenchlorid versetzt. Auch hier erhielt man das gleiche Resultat wie vorhin, eine rasch vorübergehende, grünliche Färbung. Es ist also auch keine Protocatechusäure bei dem Zusammenschmelzen des Farbstoffes mit Aetzkali gebildet worden. Dagegen konnten relativ reichliche Mengen von Oxalsäure durch die Ausfällung des in Ammoniak unlöslichen oxalsauren Calcium nachgewiesen werden. Es ist das Auftreten der Oxalsäure zugleich ein Beweis dafür, dass das Misslingen der oben angeführten Reactionen nicht etwa auf eine ungenügende Extraction des ursprünglichen Filtrates mit Aether zurückzuführen ist, da doch die Oxalsäure nur relativ schwer in den Aether übergeht.

Der Filterrückstand von dem mit Schwefelsäure behandelten Schmelzproducte wird mit Wasser sorgfältig nachgewaschen, um die gebildeten, in Wasser löslichen, niederen Fettsäuren zu entfernen und dann, behufs weiterer Reinigung

auf dem Filter in Wasser, welches durch eine geringe Menge Natronlauge alkalisch gemacht worden war, nochmals gelöst. Es löste sich der gesammte, auf dem Filter befindliche Niederschlag darin auf, während eine intensiv dunkel gefärbte Flüssigkeit durchläuft. Diese concentrirte Lösung wird mit Salzsäure übersättigt, worauf der Farbstoff sich wieder in den bekannten rothbraunen Flocken, wie vor dem Schmelzen, ausscheidet. Es wurde absetzen gelassen, decantirt, filtrirt, dann so lange mit destillirtem Wasser nachgewaschen, bis im Filtrate keine Trübung mehr mit Silbernitrat erzeugt werden konnte. Um zu diesem Punkte zu gelangen, muss man allerdings mehrere Tage nachwaschen, während welcher Zeit, um das Eintrocknen zu verhüten, der Trichter mit einer Glasplatte zugedeckt bleibt. Wenn man nach Entfernung aller Salzsäure und Salze — Kalium- und Natrium-Sulfat und -Chlorid — etwas von den auf dem Filter befindlichen, noch feuchten Flocken entnimmt, und in Alcohol von den verschiedensten Concentrationen zu lösen versucht, so findet man, dass derselbe auch beim Erhitzen sich nur wenig färbt, sondern die Farbstoffpartikelchen sich vielmehr auf dem Boden des Gefässes ansammeln. Der Farbstoff der Choroidea ist also auch nach dem Zusammenschmelzen mit Aetzkali in Alcohol unlöslich.

Nunmehr wird der Niederschlag sorgfältig vom Filter entfernt und in einer Schale auf dem Wasserbade durch mehrstündiges Erhitzen getrocknet. Nach einer genügenden Behandlung mit Alcohol und Aether wird die Substanz im Luftbade bei 100—105° bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen. Das Gewicht des gereinigten Präparates beträgt 1,2225 gr., also immer noch, trotz aller Materialverluste, circa 30% der auf dem Wasserbade getrockneten Substanz vor der Schmelze. Dasselbe liefert bei der Elementaranalyse, im offenen Rohre, mit Kupferoxyd verbrannt, folgende Zahlen:

I. 0,1178 Substanz ergiebt 0,001 gr. Asche, 0,2824 CO_2 und 0,04518 H_2O.

Substanz = 0,1168 aschefrei.

C = 65,94%.

H = 4,298%.

II. Substanz = 0,113 ergiebt 0,001 Asche und 0,0415 H_2O Die CO_2-Bestimmung ist verloren gegangen.

Substanz = 0,112 aschefrei,
C = nicht bestimmt,
H = 4,117 %.

III. Substanz = 0,1423 ergiebt 0,0012 Asche. 0,3399 CO_2 und 0,0542 H_2O.

Substanz = 0,1411 aschefrei,
C = 65,69 %,
H = 3,84 %.

Das Platinschiffchen mit der Substanz muss zur Analyse in einem kleinen Glasrohr gewogen werden, da der Farbstoff sonst während der Wägung, dadurch, dass er Wasser aus der Luft anzieht, an Gewicht merklich zunimmt. Bei der Verbrennung dauert es verhältnissmässig lange, bis eine Aenderung im Aussehen der Substanz zu beobachten ist, ein schon vor dem Schmelzen beobachtetes Verhalten.

Die Asche betrug bei diesen drei Analysen zusammen im Ganzen 0,0032 gr. Dieselbe wurde gesammelt und analysirt. Dabei stellt sich heraus, dass sie aus Siliciumdioxyd besteht. Sie hat also mit dem Körper selbst nichts zu thun, sondern stammt aus dem Glase der Retorte, weshalb wir auch ihren Procentgehalt nicht erst angegeben haben. Die Untersuchung auf Eisen, auf Calcium und Magnesium ergab ein negatives Resultat. Der Farbstoff selbst also ist aschefrei.

Wenn wir die Eigenschaften dieses Körpers, von der oben angegebenenen Zusammensetzung, mit denen des Farbstoffes vor dem Schmelzen zusammenhalten, so zeigt sich, dass der durch Säure aus der Lösung der Schmelze abgeschiedene und in der angegebenen Weise gereinigte Körper in der braunen Färbung und in dem Verhalten gegen Lösungs- und Oxydations-Mittel keine bemerkbaren Unterschiede von dem Farbstoffe, aus dem er durch Zusammenschmelzen mit Aetzkali dargestellt worden ist, aufweist. Indessen die Zusammensetzung hat eine sehr wesentliche Aenderung erfahren, indem der Stickstoffgehalt vollkommen entfernt ist; zum grössten Theile als Ammoniak, wie die Platinbestimmung des

Doppelsalzes bewiesen hat, zum kleinen Theile als Indol, und vielleicht noch andere flüchtige Stickstoffverbindungen, auf welche, wegen ihrer geringen Menge, keine Untersuchung gerichtet werden konnte.

Dieser braune Körper also, welcher mit der Lassaigne-schen Reaction keine Blaufärbung mehr zeigt, ist, wie früher, unlöslich, beziehungsweise nur sehr schwer löslich in Alcohol, Aethyläther, Petroleumäther und verdünnten Säuren. Dagegen löst er sich in verdünnter Natronlauge, Kalilauge, Aetzammoniak, oder in einer Lösung von Natriumcarbonat. Aus allen drei Lösungen kann er, entsprechend seinem früheren Verhalten, durch Uebersättigen mit Salzsäure, durch Alcohol und durch Wasserstoffsuperoxyd in rothbraunen Flocken ausgefällt werden. Er ist ferner löslich in concentrirter Salpetersäure, aus der, durch Verdünnen mit Wasser, ein in Alkalien löslicher, und aus der alkalischen Lösung durch Säure wieder ausfällbarer, aus zarten, rothbraunen Flocken bestehender Körper niedergeschlagen wird. Er ist unlöslich sowohl in Eisessig, als in verdünnter Essigsäure.

Beim Einleiten von Chlor in die alkalische Lösung findet binnen Kurzem eine Entfärbung statt, erwärmt man die wieder alkalisch gemachte, filtrirte Lösung, so treten wieder rothbraune Flocken auf beim Ansäuern, welche sich sofort in Natronlauge lösen.

Wenn wir, nach all den genannten Eigenschaften, den Körper näher charakterisiren sollen, so können wir sagen, dass in dem Pigment der Choroidea ein Körper enthalten ist von schwarzbrauner Farbe, dessen Reingewinnung resp. Abtrennung von Eiweissstoffen und Zellenresten durch verdünnte, kalte Salzsäure nicht gelingt, der in 2procentiger Alkalilauge in der Wärme allmälig gelöst wird, indem reichlich Ammoniak entweicht, von dem es vorläufig unentschieden bleiben muss, ob es allein aus den Verunreinigungen oder zugleich aus dem Farbstoff gebildet wird. Einmal in verdünnten Alkalien gelöst, ist der Farbstoff durch Säure leicht abscheidbar und leicht in Alkali wieder löslich, bildet nach dem Trocknen ein schwarzes, wie Kohle glänzendes Pulver, ist stickstoffhaltig,

nicht schmelzbar und zeigt die weiteren, oben angegebenen Reactionen.

Durch Zusammenschmelzen mit Aetzkali und Erhitzen der Schmelze bis 250° wird der ganze noch vorhandene Stickstoffgehalt, hauptsächlich als Ammoniak entfernt, und neben etwas Oxalsäure (wahrscheinlich noch flüchtigen fetten Säuren, auf welche nicht bis zu Ende untersucht worden ist) wird eine braun gefärbte amorphe Säure erhalten, welche in ihren Eigenschaften von dem, nicht mit Kali geschmolzenen, Farbstoff nicht wesentlich abweicht, von der mittleren procentischen Zusammensetzung:

C = 65,82,
H = 4,13,
O = 30,05.

Die Verbindungen der Säure mit Alkalien werden durch Kohlensäure nicht zerlegt.

Ob das Pigment der Choroidea den Huminsubstanzen zugehört, ist durch die Untersuchungen nicht endgültig entschieden.

Denn, wenn auf der einen Seite die Aehnlichkeit des äusseren Aussehens, das gleiche Verhalten gegen sämmtliche übrigen Agentien, ja sogar die Uebereinstimmung der elementaren Zusammensetzung[1]) hervorgehoben werden muss, so darf doch andererseits auch nicht unerwähnt bleiben, dass es in zwei wichtigen Eigenschaften von diesen differirt. Es liefert nämlich, beim Schmelzen mit Kali, nicht, wie die Huminsäuren, Protocatechusäure und Brenzcatechin, und es weicht fernerhin sein Schmelzproduct von den Hymatomelansäuren darin ab, dass es, frisch gefällt, nicht in Alcohol löslich ist.

Auch das Verhalten des Calcium- und des Baryumsalzes, mit dessen Untersuchung wir gegenwärtig noch beschäftigt sind, scheint mit den von Hoppe-Seyler für die Hymatomelansäuren ermittelten Thatsachen nicht im Einklang zu stehen.

---

[1]) Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. XIII, S. 111, 113, 114.

Näheren Aufschluss über die Zusammensetzung wird hoffentlich die Untersuchung der anderen, oben erwähnten, Farbstoffe noch ergeben.

Diese Untersuchungen sind von November 1887 bis Ostern 1889 mit kurzer Unterbrechung in dem physiologisch-chemischen Laboratorium der Universität Strassburg ausgeführt worden.

Strassburg, Buchdruckerei H. L. Kayser.